

氏 名	丁 宇琦
学 位 の 種 類	博士（理学）
学 位 記 番 号	理工博 第 154 号
学位授与の日付	平成 26 年 9 月 30 日
課程・論文の別	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	低分子量試料のレーザー脱離イオン化質量分析法のための混合マトリクスの開発（英文）
論文審査委員	主査 准教授 藤野 竜也 委員 准教授 久富木 志郎 委員 准教授 大浦 泰嗣

【論文の内容の要旨】

Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) is one of the most reliable implements for the analysis of macromolecules, such as proteins or peptides, because its soft ionization potential enables observation of analyte-related ions with very few fragments. MALDI offers several advantages; for example, it is uninfluenced by pollutants and impurities, its spectra are simple as the observed ions are mostly singly charged, and its operation is easy. However, it also has disadvantages. First, the fragmentation of matrix molecules appears during the laser desorption/ionization process, which makes interpretation of the spectrum difficult, and this has hindered the application of MALDI-MS to low-molecular-weight compounds. Second, the peak intensity of a protonated analyte is suppressed by the emergence of the peak of an alkali cation adducted species as alkali metal ions are ubiquitous and abundantly present in biological samples. Moreover, some analytes are quite difficult to be detected by conventional MALDI. In order to overcome those drawbacks, several methods have been attempted to date. One of these efficient means is making co-matrix of traditional organic matrix and supporter, such as zeolite and smectite.

Past few years, SmFeN magnets, which are widely studied, have been particularly attractive to researchers. Based on the interesting features, micrometer-sized SmFeN particles were used as the host molecules for the matrix. Organic matrix molecules, such as sinapic acid (SA) and succinamide (Succ), were mixed with SmFeN micro particles (MPs) to prepare the co-matrix for the mass spectral measurement of peptides. The reason why SA and Succ were selected was their low efficiency under our

experimental conditions. In addition, this is the pioneer research to use sinapinic acid for the analysis in low-molecular-weight region and it is also the first attempt to introduce succinamide to MALDI measurement. By using the co-matrix, peak intensity enhancement of analyte- and matrix-related ion on mass spectra was clearly observed. An excess of MPs might decrease the peak intensity of most of the species because of the total number of SA molecules in the excitation area (volume) decreased.

Smectite group, known as the clay with a thousand uses, is used in many industrial fields and many areas of daily life. To our knowledge, smectite group had not been applied to MALDI analysis. So a synthetic inorganic polymer with a saponite structure, called sumecton SA, was chosen as the supporter to make co-matrix with conventional matrix 2, 4, 6-trihydroxyacetophenone (THAP) for the mass spectral measurement of sugars and medicines, such as acetylsalicylic acid (ASA or Aspirin) and glucose which are very hard to be protonated by only using conventional organic matrices. By using the co-matrix, peak intensity enhancement of analyte- and matrix-related ion on mass spectra was clearly observed, which means conventional organic matrix can be applied to the measurement of low-molecular-weight compounds just need an appropriate material to form co-matrix. It is believed that this technique is a potent tool for MALDI mass spectrometry analysis.

【学位論文審査の要旨】

1 研究の目的

マトリクス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI 法)はイオン化の際に試料分子を壊さずイオン化できるソフトイオン化法として広く認識されている。この手法は主に飛行時間型質量分析装置と組み合わせることで、分子量によって試料を同定できる。この MALDI 法はペプチドやタンパクといった生体高分子の分析に威力を発揮するが、用いるマトリクス分子の開裂反応によって生じる多くのフラグメントイオンによる妨害のため、低分子量試料の測定が困難である。また、イオン化にはプロトン付加やアルカリ金属カチオン付加を利用するため、イオン化できない分子が多く存在する。さらには、MALDI 法の脱離イオン化メカニズムに関しては現在でも多くの議論がなされており、統一的な理解を得るまでには至っていない。

このため本研究では、有機酸をマトリクス分子として用いる従来 MALDI 法に、様々な分子を共マトリクスとして混在させることで、機能的なイオン化の実現を試みた。具体的には、粒子径がマイクロメートルサイズの磁性微粒子を用いることで、試料分子イオンの増強を行うことを第一の目的とした。さらに層状化合物の一つであるスメクタイトを用いることで、層間に存在できる大きさの分子だけをイオン化する手法を開発することを第二の目的とした。最後に酸化鉄ナノ微粒子をマトリクスとして利用することで、食品中に含まれる微量成分の直接測定を試みることを第三の目的とした。総じて、従来の MALDI 法に改良を加えることで、高効率にかつ機能的に分子をイオン化できる手法を開発することを本研究の目的とした。

2 研究の方法と結果

磁性分子である SmFeN を共マトリクスとして用い、モデルペプチドのイオン化を行った。その際、従来広く用いられている有機分子をマトリクスとしては用いず、シナピン酸とコハク酸アミドをマトリクスとして用いた。シナピン酸はタンパクのイオン化には用いられる分子ではあるが、低分子量試料には全く使われない。さらにコハク酸アミドは全くマトリクスとしての機能を持たない分子である。このような分子をあえてマトリクスとして利用し、磁性微粒子の混合による影響を研究した。シナピン酸のみを用いてモデルペプチドを測定した際に観測される分子イオンピーク強度と磁性微粒子を加えた後に観測される強度を比較した結果、約 40 倍の強度増強が得られることが分かった。この増強を (1) 微粒子混合による有機分子の分光特性の変化、具体的には磁場の項による遷移モーメントの増加または振電相互作用による吸光係数の増加という点で解釈し、かつ (2) 微粒子表面の凹凸によって脱離能が変化することによる影響であると結論付けた。

続いて、層状化合物の一つであるスメクタイトを共マトリクスとして用いた。スメクタイトは層間距離が約 1~2nm 程度であり、これは XRD によって距離を決定した。さらに層間には多くのカチオンが存在しており、これを試料のイオン化プローブとして用いること

が可能である。本研究ではスメクタイト間にあるカチオンをある特定の金属カチオンに置換させることで、イオン選択的に試料分子をイオン化できることを見出した。具体的には、糖分子は従来 MALDI 法でイオン化が困難である分子の一つであるが、カチオン置換したスメクタイトを有機マトリクス（例えば 2,4,6 トリヒドロキシアセトフェノン;THAP）の共マトリクスとして用いることで、高効率にイオン化できることを見出された。スメクタイト自身は紫外可視領域に吸収を持たないため、試料がイオン化されるためには必ず有機マトリクス分子が光吸収を起こす必要がある。さらには試料分子とマトリクス分子は近接している必要があるため、スメクタイトの層間距離に入れる大きさの試料分子だけがイオン化できる。実際、鎖長の違う糖分子を試料として用いてイオン化を行ったところ、スメクタイトの層間距離と同等または以上の大きさを持つ試料分子はイオン化が困難であることを見出された。つまり分子サイズ選択的なイオン化が実現されことになる。

最後に酸化鉄のナノ微粒子を用いて、食品中の食品添加物の分析を行った。とくに市販のコーラ中に含まれる 4 メチルイミダゾールや甘味料の分析を行った。これらの分子は従来の MALDI 法では測定が困難な分子ばかりである。

3 審査の結果

MALDI 法の共マトリクスとして磁性微粒子を利用した研究はほとんどない。貧マトリクスである有機分子を用いて磁性微粒子混合による影響を議論しており、モデルペプチドのイオンピーク強度が 40 倍程度増強したことは、レーザーイオン化法を用いる分析化学分野において大きな貢献を行ったと言える。特に分光学的特性の変化を詳細に議論している点は評価に値する。

層状化合物のスメクタイトをレーザーイオン化に用いることも新規の試みである。また層間距離に匹敵する大きさの分子のみがイオン化されるサイズ選択性分子イオン化法を開発したことは大いに評価に値する。このように様々な特性を持つ共マトリクスを用いることで、機能的な分子イオン化が実現できることが示され、今後の発展にも大きな期待が持てる。

本研究に関しては、学位論文の 2 章が第一著者として国際物理化学系専門誌 **Chemical Physics Letters** に掲載されている。以上から判断し、本研究は本学の博士（理学）の学位に値するものと判断した。

4 最終試験の結果

本学の学位規定によって、試問及び試験を行った。論文審査委員により、本論文及び関連分野についての試問を行った。さらに公聴会の場で論文発表を行い、分子物質化学専攻の教員による質疑応答をもって試験にあてた。本博士論文は英語で記載されており、かつ、欧文雑誌に第一著書として論文が掲載されていること、編集局との事務手続きを行ったこ

と考慮し、外国語の能力も十分と判断した。その結果、専門科目及び外国語について十分な学力があることを認め、合格と判定した。